

In-situ microscop probe for particle measurement technique

Patent Number: ☐ EP0990936
Publication date: 2000-04-05
Inventor(s): SUHR HAJO PROF DR (DE)
Applicant(s):: SUHR HAJO PROF DR (DE)
Requested Patent: ☐ DE19726518
Application Number: EP19980118540 19980930
Priority Number(s): EP19980118540 19980930; DE19971026518 19970623
IPC Classification: G02B21/00
EC Classification: G01N15/02B3, G02B21/06
Equivalents:

Abstract

Microscope sensor is directed at in situ particle movement within a dispersed substance, e.g. emulsions, aerosols, dust, foam, bubble distribution. The in-situ microscope has pulse illumination generated by one or more light-emitting diodes. The image is detected by e.g. a standard charge-coupled device video camera of standard light sensitivity and without a light amplifier. The LEDs are subjected to a pulse electrical supply which is of an order above that of the manufacturer's nominal rated value (of e.g. 10 A). The pulse duration is precisely set to a period of e.g. 0.3 microns to obtain short exposure times and extend LED service life.

Data supplied from the esp@cenet database - I2



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 197 26 518 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁸:
G 01 N 15/14
C 12 M 1/34
C 12 Q 1/00
G 02 B 21/00

⑲ Aktenzeichen: 197 26 518.9
⑳ Anmeldetag: 23. 6. 97
㉑ Offenlegungstag: 4. 2. 99

⑦1 Anmelder:
Suhr, Hajo, Prof. Dr., 69121 Heidelberg, DE

⑦4 Vertreter:
Meyer-Graf von Roedern, G., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.,
Pat.-Anw., 69115 Heidelberg

⑦2 Erfinder:
gleich Anmelder

⑤6 Entgegenhaltungen:
DE 40 32 002 C2
DE 37 34 691 C2
DE 42 15 908 A1
DE 39 06 555 A1
US 53 31 405 A
US 50 84 614 A
WO 94 14 049 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt
⑤4 In situ Mikroskopsonde für die Partikelmeßtechnik

DE 197 26 518 A 1

Bewegte Partikeln in disperser Verteilung müssen zur Beherrschung vieler technischer und industrieller Prozesse meßtechnisch erfaßt und charakterisiert werden. Beispielsweise fallen in diese Kategorie gerührte Suspensionen, Emulsionen, Aerosole, Staub, Schaum und geschüttete Materialien. Eine bekannte Technik zur Bestimmung der Morphologie und Konzentration disperser Partikeln ist der direkte Einbau eines Mikroskops zur Beobachtung der Partikeln in situ, direkt im Prozeß. Dies Verfahren wird unter der Bezeichnung "In situ Mikroskopsonde" dargestellt in der Patentschrift DE 40 32 002 52 sowie in der Zeitschrift "Biotechnology & Bioengineering" Jahrgang 1995, Band 47, Seiten 106-116.

Die dort beschriebene Meßvorrichtung besteht aus einem Videomikroskop, das mit dem Objektiv direkt in die bewegte Partikel-Dispersion hineinsieht und bei gepulster Belichtung scharfe mikroskopische Bilder bewegter Partikeln in einem schmalen Probevolumen erzeugt. Das Meßvolumen wird entweder mechanisch begrenzt oder bildet sich infolge des Sichtausschnitts und der begrenzten Schärfentiefe des Mikroskops von selbst als virtuell begrenztes Volumen heraus.

Vorteilhaft für die letztere Version des In situ Mikroskops ist der Verzicht auf bewegliche mechanische Teile und die somit stark verminderte Störanfälligkeit. Ihr Problem ist jedoch die ungebremste schnelle Bewegung der Partikeln durch das Probevolumen hindurch, denn die Partikelbewegung ruft eine im mikroskopischem Maßstab beträchtliche photographische Bewegungsunschärfe hervor.

Die Kontur eines Partikels beispielsweise, welches sich mit einer Geschwindigkeit von 1 m/s fortbewegt, verwischt sich in einer Mikrosekunde bereits um 1 µm. Um also das Auflösungsvermögen des Mikroskops nicht wesentlich zu beeinträchtigen, sind Belichtungszeiten von deutlich unter einer Mikrosekunde notwendig. Um die Belichtung einer normal empfindlichen Videokamera durch das Mikroskopbild sicherzustellen, wird trotz der kurzen Belichtungszeiten eine beträchtliche Puls-Energie von ca. 0,5 Mikrojoule gebündelt auf einer Objektfeld-Fläche von ca. 0,1 bis 1,0 mm² verlangt. Diese hohe Lichtleistung in Verbindung mit den verlangten kurzen Pulszeiten konnte in der In Situ Mikroskopie bisher nur mit gepulsten Laserlichtquellen realisiert werden – also mit erheblichem apparativen Aufwand. Der Aufwand für Laserbelichtung wird noch durch die hohe Kohärenz des Laserlichtes erhöht. Kohärenz ruft störende Beugungsphänomene im Mikroskopbild hervor ("Speckles"), die durch zusätzliche Maßnahmen verringert werden oder aber in der Bildverarbeitung mit vermehrter Rechenzeit herausgerechnet werden müssen.

Diese Erfindung vereinfacht die Belichtung für das In Situ Mikroskop nach dem Verfahren von Anspruch 1.

In Anspruch 1 wird eine gepulste Belichtung des In Situ Mikroskops mit Elektroluminiszenz-Dioden (LED-Dioden) offenbart. Die Belichtung mit LED-Dioden bringt entscheidende technische Vorteile:

- sehr geringer Raum- und Energiebedarf, ideal für kompakte und mobile Meßsonden
- keine Wartungsprobleme, anspruchloser Betrieb,
- Niedervoltbetrieb,
- gute Pulsbarkeit, keine störende Interferenz (Speckles) durch Laserkohärenz
- sehr geringe Kosten.

LED-Dioden sind allerdings bei Standard-Betriebsströmen, die vom Hersteller spezifiziert werden, oft nicht aus-

reichend hell, um damit ein gepulstes In situ Mikroskop mit Standard-Kamera ohne Lichtverstärker zu betreiben, beispielsweise Charged Coupled Device-(CCD-)Kameras.

In Anspruch 2 wird ein Verfahren offenbart, um auch in diesem Fall – der beispielsweise bei schwach kontrastierenden Bioorganismen in Wasser auftritt – die LED Belichtung für die In situ Mikroskopie zu realisieren. In diesem Verfahren wird der LED-Diode ein kurzer starker Strompuls in Durchlaßrichtung eingeprägt, der gemessen an der Diodenspezifikation eine grobe Überlast darstellt. Bei einem derartigen Stromimpuls emittiert die Diode kurze intensive Lichtpulse, die auch schwach kontrastierende Partikel im In situ Mikroskop mit Standard-Kamera sichtbar macht. Die Zerstörung der Diode kann durch die Kürze der eingeprägten Strompulse vermieden werden.

Aufgrund der LED-Belichtung kann das gesamte In situ Mikroskop sehr kompakt gebaut und konsequent als autonom funktionsfähige, tragbare Meßsonde ausgestaltet werden. In Anspruch 3 wird ein In Situ Mikroskop mit LED-Belichtung offenbart, bei dem zusätzlich die automatische Bildverarbeitung durch einen in der Kamera integrierten digitalen Signalprozessor geleistet wird. (Solche "intelligenten Kamerasysteme" sind heute von mehreren Herstellern erhältlich). Das offenbarte System stellt damit einen sehr kompakten, mobilen und autonomen Partikelsensor dar, der auch ohne externen Computer in der Lage ist, Bilder und Meßparameter der dispergierten Partikel für die Prozeßbeobachtung und Prozeßsteuerung zu liefern.

Zur Bündelung des LED-Lichtes in das Probevolumen vor dem Objektiv sind verschiedene Verfahren und Vorrichtungen geeignet, die in den weiteren Ansprüchen offenbart werden:

Lichtleiter (Ansprüche 6 und 13, sowie Fig. 4) sind zur Hinführung des LED-Lichtes zur Objektebene des In situ Mikroskops ebenso geeignet wie Kondensoroptiken mit Linsen und Spiegeln (Anspruch 9, 12 und Fig. 3). Auch Aufsichtbelichtung mit LED-Dioden ist nach Ansprüchen 7, 14 und Fig. 5 ein geeignetes Verfahren.

Falls die thermischen und chemischen Bedingungen in der Partikeldispersion es erlauben, ist es nach den Ansprüchen 4, 5 und 11 sowie Fig. 2 vorteilhaft, die Emissionsfläche der LED-Diode so nahe an das mikroskopierte Volumen heranzuführen, daß trotz Strahldivergenz das Diodenlicht auch ohne Fokussierung noch ausreichend hell zur Belichtung ist. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt im möglichen Verzicht auf zusätzliche Belichtungsoptik.

Eine vorteilhafte Ausgestaltung eines In Situ Mikroskops mit LED-Dioden als Lichtquelle wird exemplarisch anhand der Figuren Fig. 4 für den Gesamtaufbau und Fig. 1 für die Elektronik dargestellt.

Seitlich am Mikroskoptubus 17a in Fig. 4 befinden sich LED-Dioden 15. Das emittierte Licht der Dioden gelangt über Einkoppeloptiken in die Lichtfasern 16. Diese werden am inneren Rand 17 des Tubus bis zum Sichtfenster 18 am Objektiv 18a geführt. Durch Bohrungen 19 in der Stirnseite des Tubus gelangen die Lichtfasern in die Partikeldispersion 21a und werden dort in Kapillaren 20 dergestalt geführt, daß sie aus definierten Richtungen in das Probevolumen 21 strahlen.

Wahlweise kann die Lichtfaseremission durch miniaturisierte Auskoppeloptiken am Ende der Führungskapillaren gebündelt werden.

An den Partikeln gestreutes Licht aus den Lichtfasern erzeugt mit Hilfe des Objektivs 18a reelle Partikelbilder auf der Sensorfläche 24a einer CCD-Kamera. Das Kamerasignal wird der automatischen Bildverarbeitung zugeleitet. Auf einem Monitor erscheint das Bild der Partikel in Echtzeit.

Die Öffnungszeit der Kamera wird von einer Triggerelektronik 23 mit den Pulsen der LED-Dioden 15 synchronisiert. Der Schaltplan der Pulselektronik 22 ist in Fig. 1 dargestellt.

Von einem Trigger werden Pulse erzeugt, die in einer weiteren Schaltungsstufe 1 belastbare Steuerpulse mit definierter Zeitdauer $< 1 \mu s$ auslösen. Diese Steuerpulse steuern das Gate eines Feldeffekt-Transistors (MOSFET) 2 auf Durchlaß. Über die geöffnete Transistorstrecke werden der LED-Diode 3 durch die angelegte Spannung Pulsströme von ca. 5 A eingeprägt.

Die Dauer der Ströme ist zu begrenzen, um die LED-Diode 3 nicht zu zerstören. Die hohen Pulsströme erzeugen kurzzeitige Lichtpulse von ca. 0,5 W, also von etwa einer Größenordnung über der Nennleistung lichtstarker käuflicher LED-Dioden. Diese Lichtenergie ist für die Belichtung der Mikroskop-Kamera auch bei starker Mikroskopvergrößerung ausreichend.

Patentansprüche

1. Verfahren zur In situ-Abbildung bewegter Partikeln in dispersen Verteilungen wie beispielsweise in Suspensionen, Emulsionen, Aerosolen, Stäuben, Schäumen, Blasenverteilungen und Schüttungen mit Hilfe einer In situ Mikroskopsonde gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - das In situ Mikroskop wird mit Hilfe einem LED-Diode (= Elektrolumineszenz-Diode) oder mehrerer synchronisierter LED-Dioden gepulst belichtet,
 - zur Bilderfassung dient eine Videokamera ohne Lichtverstärker, beispielsweise eine handelsübliche CCD-Kamera mit Standard-Lichtempfindlichkeit.
2. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - in die LED-Dioden des In situ Mikroskops werden Pulsströme eingeprägt, deren Stärke (beispielsweise 10 A) bis zu Größenordnungen über der Nennstrom-Angabe des Herstellers liegen,
 - die Pulsdauer wird zur Erzielung kurzer Belichtungszeiten und langer Dioden-Lebensdauern elektronisch präzise eingestellt, beispielsweise auf 0,3 Mikrosekunde.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - die Ausgestaltung des In situ Mikroskops mit LED-Belichtung und mit handelsüblicher Kamera mit interner Signalverarbeitung ergibt eine kompakte, autonome und mobile Meßsonde für Partikeln, die benutzt werden kann ohne zusätzliche Hilfsapparaturen wie etwa externe Computer,
 - in dem In situ Mikroskop ist eine handelsübliche "intelligente Kamera" mit integriertem und programmierbarem digitalen Signalprozessor eingebaut
 - der kamerainterne Signalprozessor übernimmt die Steuerung des CCD-Chips und die automatische Bildverarbeitung,
 - der kamerainterne Signalprozessor berechnet je nach Programmierung charakteristische Partikelparameter wie beispielsweise die Anzahl scharf abgebildeter Partikeln oder den mittlere Flächeninhalt der Partikelbilder als Größenmaß,
 - die berechneten Parameterwerte werden direkt am Kameragehäuse auf einem Display dargestellt und als analoge Signale für Steuerung und Rege-

lung zur Verfügung gestellt.

- die Kamera erzeugt auf Abruf ein stehendes Mikroskopbild der Partikeln direkt auf einem Videomonitor, der wahlweise auch miniaturisiert und im Sondengehäuse integriert sein kann.
4. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - die Emission der Dioden wird direkt oder über plane Spiegel in das mikroskopierte Volumen gestrahlt, ohne daß Lichtleiter, Linsen oder sphärische Spiegel eingesetzt werden,
 - die strahlungsaktive Halbleiter-Oberflächen der LED-Dioden werden so nahe am mikroskopierte Volumen positioniert, daß ihre Helligkeit ohne zusätzliche optische Fokussierung zur Belichtung der Mikroskopkamera ausreicht.
 5. Verfahren nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - die transparenten Plexiglas- oder Acrylglas-Körper, in welchen die Halbleiterelemente der handelsüblichen LED-Dioden eingegossen sind, werden bis dicht an die Halbleiter-Strahlungsquelle und formgünstig abgeschliffen, um die Distanz der Strahlungsquelle zum bestrahlten Volumen auf ein Minimum zu verringern.
 6. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - das zur Belichtung verwendete LED-Diodenlicht wird in Lichtleiter eingekoppelt, und wird von den Enden der Lichtleiter in das mikroskopierte Volumen gestrahlt,
 - die Abstrahlung der Lichtleiter kann durch eine zusätzliche Auskoppeloptik gebündelt werden,
 - die Richtung der Bestrahlung wird orientiert
 - a) längs der optischen Achse des Objektivs für Hellfeld-Mikroskopie
 - b) quer zur optischen Achse des Objektivs für Dunkelfeld-Mikroskopie und
 - c) schräg für gewünschte Übergänge zwischen Dunkelfeld und Hellfeld.
 7. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
 - die belichtenden LED-Dioden strahlen ihr Licht zum Zweck der Aufsichtbelichtung auf einen halbdurchlässigen Schrägspiegel oder Lochspiegel in den Strahlengang des Mikroskops,
 - je nach Einsatz eines Hellfeld- oder Dunkelfeld-Objektivs - ergibt sich die Belichtung des mikroskopierte Volumens durch Fokussierung des LED-Lichts mit den Objektivlinsen oder mit einem sphärischen Spiegelkranz konzentrisch mit dem Objektiv.
 8. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch folgendes Merkmal:
 - die LED-Dioden sind an der Innenwand des Mikroskoptubus eingebaut und erzeugen über einen Spiegelkranz wie beispielsweise bei handelsüblichen Aufsicht-Dunkelfeld Objektiven eine gebündelte Belichtung des Probevolumens
 9. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet durch folgende Merkmale:
 - Das Licht einer LED-Diode wird mit einer Mikroskop-Kondensoroptik gebündelt und zum Probevolumen geführt,
 - das reelle Bild der hellen LED-Emissionsfläche wird nahe an die Objektebene oder genau in sie hinein verlegt, so daß das Probevolumen einerseits ausreichend hell und andererseits ausrei-

- chend homogen bestrahlt wird.
10. Eine vorteilhafte Schaltung zur Ausgestaltung von Anspruch 2, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- ein elektronischer Trigger liefert in geeigneter Frequenz oder auf Tastendruck Triggerpulse,
 - die Pulse triggern in einer zweiten Schaltungsstufe 1 die Erzeugung von belastbaren Steuerpulsen mit definierter Zeitdauer von beispielsweise 0,3 μ s,
 - die Steuerpulse aus dem getriggerten Pulsgenerator steuern das Gate eines Feldeffekttransistors 2 auf Durchlaß,
 - durch die Öffnung des Transistors werden der LED-Diode 3 Pulsströme von ca. 5 A und mehr eingeprägt, wobei diese Stromstärke weit über dem vom Hersteller angegebenen Nennstrom liegt,
 - die hohen Strompulse regen die Diode zu einer intensiven Lumineszenz an, die hinreichend hell zur Belichtung des In situ Mikroskops ist.
11. Eine vorteilhafte Ausgestaltung nach Ansprüchen 4 und 5, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- die LED-Diode 4, deren Glaskörper bis dicht an den Halbleiter heran abgeschliffen ist, ist dergestalt am Glasfenster 5 vor dem Objektiv 6 befestigt, daß sie mit hoher Intensität direkt in das Probevolumen 7 strahlt,
 - um einen kompakten und hermetisch abgeschlossenen Sensorkopf zu gewährleisten, werden die abgeschirmten elektrischen Zuleitungen 8 eng am Fenster gekapselt, dann über Bohrungen 9 in der Fensterfassung abgedichtet in den Mikroskoptubus 10 geführt und an der Innenwand 11 zur Elektronik geführt.
12. Vorteilhafte Ausgestaltung einer Vorrichtung nach Anspruch 9, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- die LED-Diode 12 ist in einem eigenen Tubus 13 montiert, der am Mikroskoptubus 14c befestigt ist,
 - der Tubus 13 enthält eine Kondensoroptik 14, die das Licht in das Probevolumen 14a vor dem Mikroskopobjektiv 14b bündelt,
 - das reelle Bild der aktiven Dioden-Emissionsfläche wird von der Kondensoroptik so nahe an der scharf abgebildeten Objektebene erzeugt, daß letztere hell aber auch homogen ausgeleuchtet wird.
13. Vorrichtung nach Anspruch 6, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- die LED-Dioden 15 werden an Lichtfasern 16 gekoppelt, die an der Tubusinnenwand 17 bis zum Sichtfenster 18 geführt wird,
 - durch Bohrungen 19 durch die Fassung des Sichtfensters an der Stirnseite des Tubuskörpers gelangen die Lichtfasern in eine Führungskapillare 20, und werden von dieser durch die Partikeldispersion 21a an das Probevolumen 21 herangeführt,
 - die Lichtfaser endet bündig mit der Kapillare und ist dort fest und hermetisch dicht eingeklebt,
 - die Kapillare wird am Ende so ausgerichtet, daß entweder Dunkelfeld- oder Hellfeld-Mikroskopie oder Übergänge dazwischen erzielt werden.
 - Ein reelles Bild der Partikel wird vom Objektiv 18a auf der Sensorfläche 24a der CCD-Kamera 24

- entworfen und steht der Signal-Verarbeitung und Darstellung auf einem Monitor zur Verfügung.
14. Eine Vorrichtung nach Anspruch 7, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- eine LED-Diode 22 strahlt nach optischer Strahlbündelung 23 über einen halbdurchlässigen Spiegel 24 von hinten in das Mikroskop,
 - durch das Objektiv 25 wird das Licht der Diode fokussiert und erzeugt eine Auflicht-Belichtung des Probevolumens 26 vor dem Objektiv.
15. Eine vorteilhafte Vorrichtung nach Anspruch 8, gekennzeichnet durch die folgenden Merkmale:
- symmetrisch zur optischen Achse des Mikroskops sind an der Innenwand des Tubus 27 synchronisierte LED-Dioden 28 mit Auskoppeloptik 29 angeordnet.
 - durch einen zum Objektiv konzentrischen sphärischen Spiegelkranz 30 wird das Diodenlicht schließlich in das Probevolumen 31 fokussiert.

Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

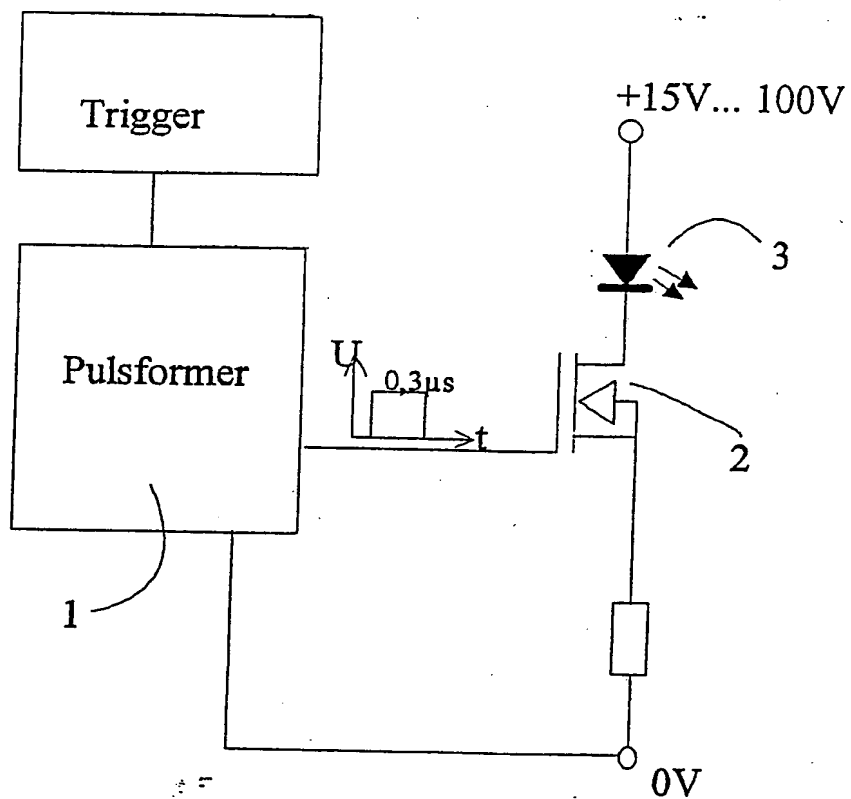


FIG.1

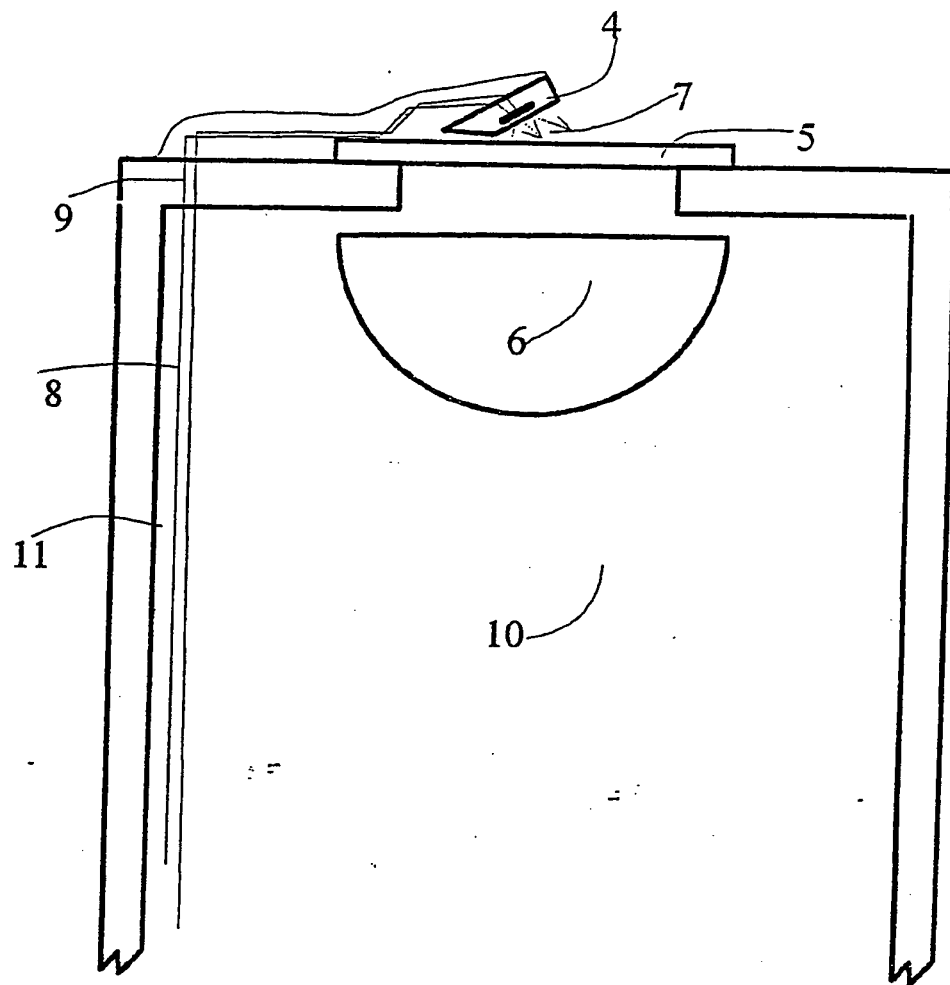


Fig.2

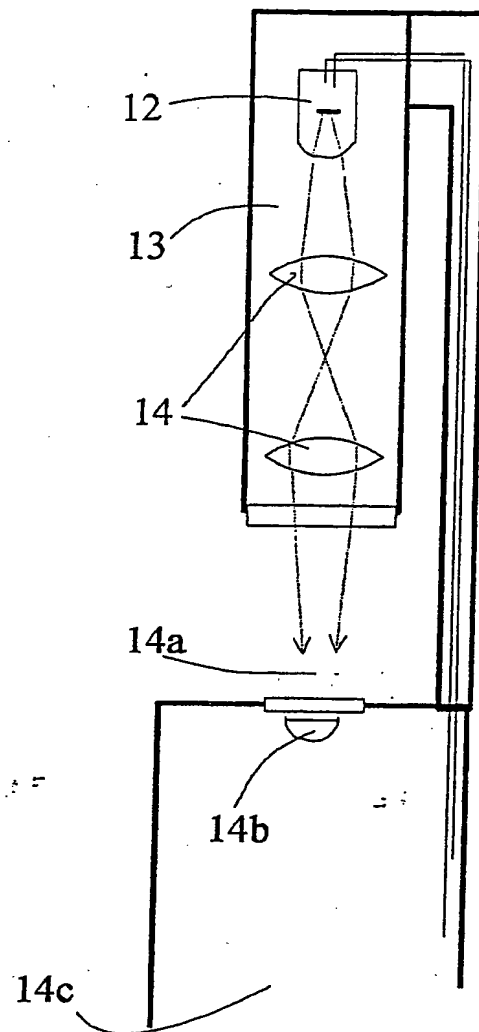


Fig.3

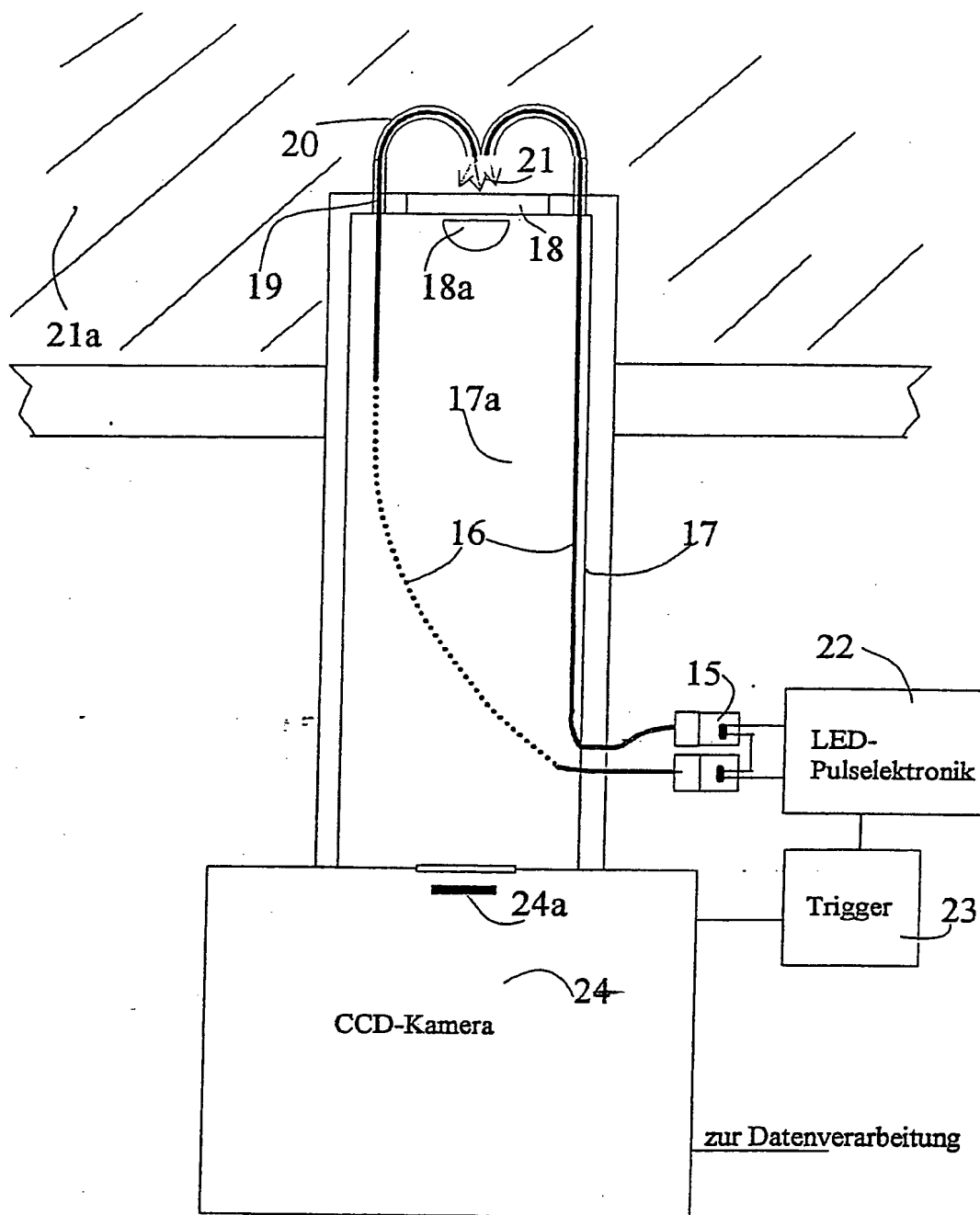


Fig.4

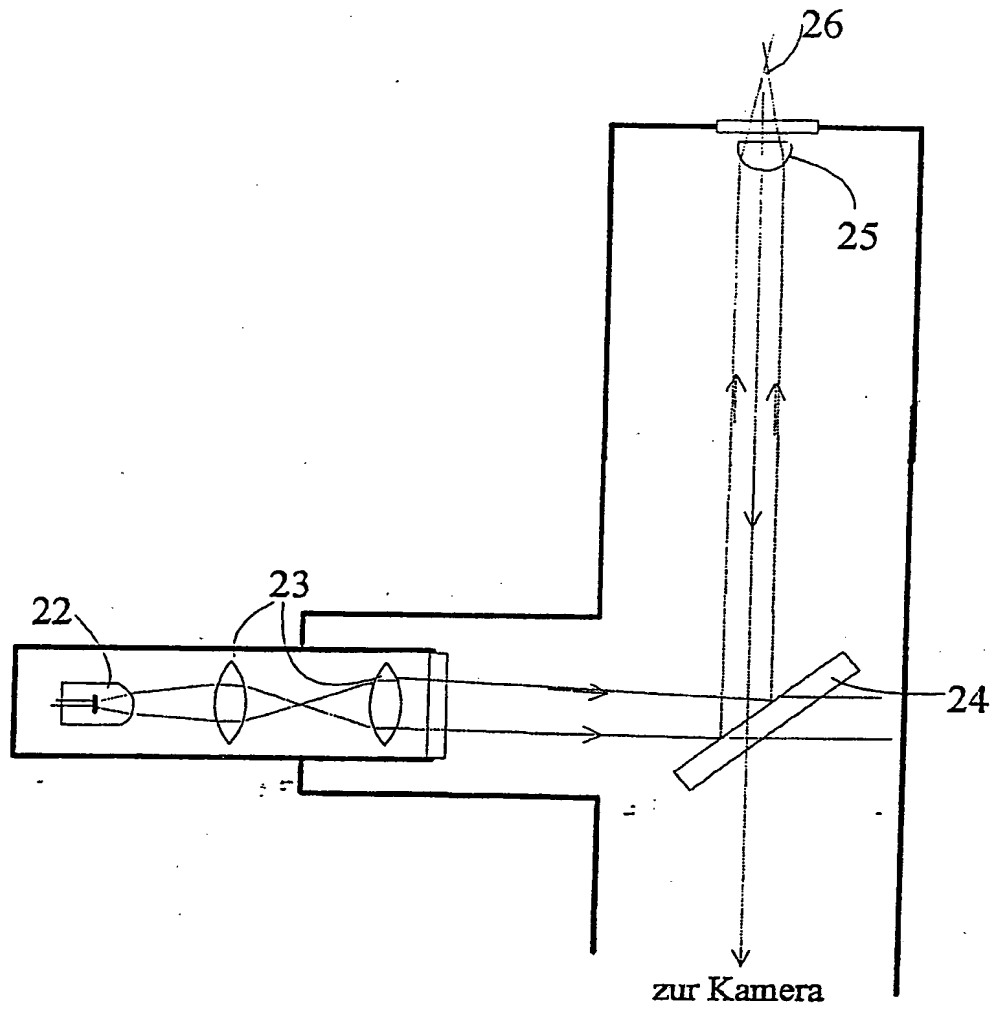


Fig.5 -

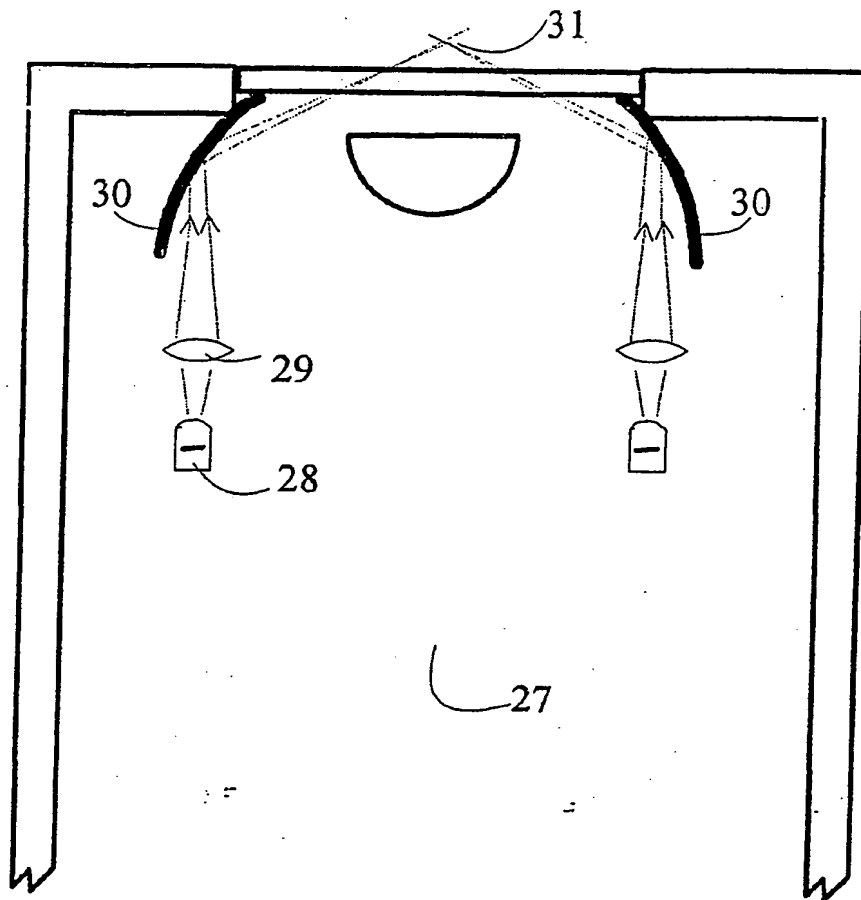


Fig.6